Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf

und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für Experimentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

"Untersuchungen zur "Clustergröße" der A dark Spermatogonien des Menschen"

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Altfried Kammann

1978

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536504_0059

Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf

und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für Experimentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

"Untersuchungen zur "Clustergröße" der A dark Spermatogonien des Menschen"

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Altfried Kammann

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan	Referent
der Medizinischen Fakultät	gez.: Prof. Dr. Hilscher
der Universität Düsseldorf	Korreferent
gez. Prof. Dr. Hopf	gez. Prof. Dr. Hofmann

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methodik	9
Resultate	13
Diskussion	17
Zusammenfassung	21
Abbildungen	24
Tabellen	28
Figuren	31
Literatur	

Einleitung

Das Samenepithel der Säugetiere setzt sich aus mehreren aufeinander folgenden konzentrisch angeordneten Zellschichten zusammen. In der untersten, der Kanälchenmembran angrenzenden Schicht liegen die nicht und weniger differenzierten Spermatogonien, in der zweiten Schicht die höher differenzierten Spermatogonien und die frühen Phasen der I-Spermatocyten (Präleptotän-, Leptotän- und Zygotänstadium), in der dritten Schicht die späten Phasen der I-Spermatocyten (Pachytän-, Diplotän- und Diakinesestadium), die II-Spermatocyten sowie die Mitosefiguren der 1. und 2. Reifeteilung, in der vierten Schicht die runden Spermatiden sowie die ersten beiden Phasen der elongierten Spermatiden und in der fünften Schicht die letzten beiden Phasen der elongierten Spermatiden. Neben dieser horizontalen Anordnung der aufeinander folgenden Zellschichten zeigt das Samenepithel eine vertikale, von der Basalmembran zur Kanälchenlichtung orientierte Gliederung in Form von Zellassoziationen. Eine Zellassoziation ist dadurch gekennzeichnet, daß die Entwicklungsphasen, in denen sich die Geschlechtszellen befinden, genau aufeinander abgestimmt sind. Da das Samenepithel von 4 bzw. 5 aufeinander folgenden Schichten gebildet wird, setzt sich auch eine Zellassoziation aus 4 bzw. 5 Schichten von Geschlechtszellen zusammen. Diese befinden sich jeweils in einer ganz bestimmten Entwicklungsphase und sind in der Vertikalen so miteinander assoziiert, daß sie stets nur in dieser einen Kombination vorkommen, d.h., daß sie ein in den

Samenkanälchen immer wieder auftretendes, stets gleich bleibendes Phasenmuster der Geschlechtszellen bilden. Sämtliche Entwicklungsphasen, die eine Geschlechtszelle durchläuft, um im Bereich einer Zellassoziation von einer Schicht in die nächsthöhere zu gelangen, werden zu einem Cyklus zusammengefaßt. Der Zeitabschnitt, in dem die Geschlechtszelle diese Entwicklungsphasen durchläuft, wird Cyklusdauer genannt. Sie beträgt beim Menschen etwa 16 Tage.

Bei der Ratte beträgt die Cyklusdauer annähernd 13 Tage (Clermont u. Harvey 1965, Hilscher 1964, Hilscher und Hilscher 1969, Huckins 1965), bei der Maus etwa 8,5 Tage (Oakberg 1956), beim Kaninchen etwa 10,5 Tage (Amann, Koefoed, Johnson und Levi 1965, Orgebin-Crist 1965, Swierstra und Foote 1963), beim Schafsbock ebenfalls etwa 10,5 Tage (Hochereau, Courot und Ortavant 1964, Ortavant 1954, 1956, 1958), beim Stier annähernd 13,5 Tage (Hochereau, Courot und Ortavant 1964), beim Eber etwa 8,5 Tage (Swierstra 1968) und beim Menschen etwa 16 Tage (Heller und Clermont 1963). Clermont hat kürzlich in einer Übersichtstabelle die Cyklusdauer von verschiedenen Tierarten angegeben (1972, Tab. 2,S.214-215).

Dadurch, daß die Cyklusdauer bei der Ratte nahezu keinen biologischen Schwankungen unterliegt, sind immer die gleichen Entwicklungsstadien der einzelnen Schichten innerhalb eines Kanälchenquerschnittes mit einander assoziiert. Leblond und Clermont (1952) faßten ganz charakteristische Gruppierungen

der einzelnen Keimzellschichten zu 14 Stadien zusammen. Diese Stadieneinteilung basiert auf den einzelnen Entwicklungsschritten der Spermatiden während der Spermiogenese.

Da immer die gleichen Entwicklungsstadien der einzelnen Keimzellschichten innerhalb eines Kanälchenquerschnittes miteinander assoziiert sind, zeigen die aneinandergereihten Stadien I - XIV nicht nur die aufeinander folgenden Entwicklungsschritte der Spermatiden, sondern auch die einzelnen Entwicklungsschritte der Spermatogonien und Spermatocyten. Wegen dieses übersichtlichen Aufbaus des Samenepithels konnte bei der Ratte auch die Anzahl der hintereinandergeschalteten differenzierenden Spermatogoniengenerationen bestimmt werden. Es sind dies die A_1 -, A_2 -, A_3 -, A_4 -, I m - und B - Spermatogonien, die in der aufgeführten Reihenfolge in den Stadien IX, XII, XIV, I, IV und VI in die Mitose treten (Abb. 1).

Durch die Mitose der B-Spermatogonien in Stadium VI entstehen die präleptotänen I-Spermatocyten, kleine Zellen, die den B-Spermatogonien zunächst sehr ähnlich sehen. Die präleptotänen I-Spermatocyten rücken allmählich in die nächst höhere Keimzellschicht auf und treten in Stadium IX in das Leptotänstadium der Meiotischen Prophase.

Wie verhält es sich nun mit dem Aufbau des Samenepithels beim Menschen, und was für Spermatogonientypen enthält das menschliche Samen-Kanälchen? Hilscher (1974) führt hierzu aus:

"Das Samenepithel des Menschen und - wie Leidl und Waschke (1970) hervorgehoben haben - auch das Samenepithel der Menschenaffen sind nicht so übersichtlich gegliedert wie das der Ratte und anderer Säugetiere. Die verschiedenen Stadien entsprechen nicht - wie bei der Ratte und anderen Säugetieren - Segmenten und sind nicht in Form einer Welle angeordnet, sondern grenzen ohne jede ersichtliche Ordnung aneinander. Daher zeigen die Querschnitte der Samenkanälchen des Menschen und der Menschenaffen keinen einheitlichen Aufbau, sondern willkürlich aneinandergereihte Stadien (Abb. 2).
Nach den Angaben von Clermont (1963) enthalten die einzelnen Querschnitte durchschnittlich 3 Stadien. Insgesamt unterscheidet Clermont 6 Stadien, die analog zu den 14 Stadien der Ratte aus miteinander assoziierten Keimzellschichten bestehen. Clermont (1963) weist nachdrücklich darauf hin, daß es zahlreiche Abweichungen von den 6 regulären Stadien gibt. 3 Ursachen sind seiner Meinung nach hierfür verantwortlich:

1. sind die Bezirke, welche ein Stadium repräsentieren, meistens so klein, daß es leicht zu Überschneidungen zwischen 2 aneinandergrenzenden Stadien kommen kann. Zonen, die sich aus solchen, von Clermont heterogen genannten Zellassoziationen zusammensetzen, werden

häufig beobachtet und tragen zu der dann offensichtlichen Desorganisation des histologischen Bildes des Samenepithels bei;

2. fehlt in einem Stadium mitunter eine ganze Zellschicht, z.B. die Schicht der pachytänen Spermatocyten, ja mitunter fehlen sogar 2 Zellschichten;

3. zeigen Zellassoziationen eines Stadiums eine größere Variabilität als bei der Ratte oder anderen Säugetieren, so daß z.B. das Stadium VI leptotäne statt zygotäner Spermatocyten enthält oder das Stadium IV oder sogar V präleptotäne statt leptotäner Spermatocyten.

Zweifellos kommen auch im menschlichen Samenkanälchen innerhalb eines Zellverbands Zellschichten vor, die aus einer offensichtlich synchronen Zellpopulation bestehen. Das deutet darauf hin, daß eine solche Zellpopulation möglicherweise auf eine gemeinsame Ausgangszelle zurückgeführt werden kann. Mit dieser Deutung in Einklang stehen auch die Beobachtungen von Dym und Fawcett (1971) an Samenkanälchen der Ratte, in denen sie Zellbrücken zwischen Gruppen offensichtlich synchroner Spermatogonien oder Spermatocyten feststellten, und die sie als Beweis für eine gemeinsame Abstammung ansahen."

Über die Spermatogonien des Menschen führt Hilscher (1974) aus:

"Im Gegensatz zu anderen Säugetieren, die 5 und mehr

Spermatogoniengenerationen besitzen, soll es nach Clermont (1963, 1966, 1972) beim Menschen nur 3 Spermatogoniengenerationen geben, und zwar dunkle (dark) und helle (pale) A-Spermatogonien sowie B-Spermatogonien. Die letzteren sehen den präleptotänen Spermatocyten ähnlich. Nach den Angaben von Clermont (1966) verhält sich das Zahlenverhältnis dunkler A-, heller A-Spermatogonien, B-Spermatogonien und präleptotänen Spermatocyten wie 1 : 1 : 2 : 4.
Clermont (1966) hält die dunklen A-Spermatogonien für die Stammzellen bzw. Stammspermatogonien. Er räumt jedoch ein, daß möglicherweise auch die hellen A-Spermatogonien die Stammzellen sind, von denen die ständige Erneuerung des Samenepithels ausgeht. Da noch nicht klar ist, in welcher Reihenfolge die dunklen und hellen A-Spermatogonien hintereinander geschaltet sind, können z.Z. auch zum Regenerationsmodus des menschlichen Samenepithels nur Hypothesen diskutiert werden.

Über die Morphologie der Spermatogonien finden sich in der Literatur (Clermont 1963, Rowley, Berlin und Heller 1971, Wartenberg 1976) folgende Angaben:

"Die Spermatogonien vom Typ B - B-Spermatogonien - sind die unmittelbaren Vorläufer der I-Spermatocyten und stehen mit der Basalmembran nur durch einen schmalen Cytoplasmafortsatz in Kontakt. Sie besitzen einen annähernd runden, scharf konturierten Kern, der im Gegensatz zu den B-Spermatogonien vieler Säugetierspecies keine so starken

Chromatinablagerungen an der Kernmembran zeigt. Der Nukleus liegt zentral. Bei elektronenmikroskopischer Betrachtung finden sich im Cytoplasma Mitochondrien vom Cristae-Typ, Glykogenpartikel sind nicht nachweisbar."

Die Spermatogonien vom Typ A dark liegen der Basalmembran breit auf. Sie besitzen einen leicht ovalen, sehr dunklen Kern, der mehrere Nukleolen enthält und eine auffallende zentrale Aufhellung aufweist. Es finden sich keine Chromatinablagerungen an den Kernen. Bei elektronenmikroskopischer Betrachtung finden sich im Cytoplasma Mitochondrien vom tubulären Typ sowie Glykogenpartikel.

Die Spermatogonien vom Typ A pale liegen der Basalmembran auf. Sie besitzen einen deutlich ovalen, gleichmäßig hellen Kern, an dessen zarter glatter Kernmembran keine Chromatinablagerungen zu erkennen sind. Die Nukleolen sind meist halbmondförmig der Kernmembran angelagert. Bei elektronenmikroskopischer Betrachtung finden sich im Cytoplasma Mitochondrien vom Cristae-Typ, Glykogenpartikel sind nicht nachweisbar.

Die Spermatogonien vom Typ A long liegen der Basalmembran breit auf und besitzen einen langgestreckten, parallel zur Basalmembran orientierten, dunklen, feingranulierten Kern. Chromatinablagerungen an der Kernmembran sind nicht nachweisbar. Bei elektronenmikroskopischer Betrachtung finden sich Mitochondrien vom tubulären Typ sowie Glykogenpartikel.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, anhand einer von Herrn Professor Holstein (Anatomisches Institut der Universität Hamburg) zur Verfügung gestellten Serie von 250 Semidünnschnitten den "Stellenwert" der A-dark-Spermatogonien in der Kinetik der menschlichen Spermatogenese festzustellen, d.h. zu eruieren, an welcher Stelle der Spermatogonienentwicklung die A-dark-Spermatogonien einzugliedern sind und damit auch ein Indiz für die Klärung der Frage zu gewinnen, ob die A-dark-Spermatogonien

1. den A-pale-Spermatogonien vor- oder nachgeschaltet sind,

2. den B-Spermatogonien unmittelbar vorgeschaltet sind.

Da die Geschlechtszellen, wie Dym und Fawcett (1971) sowie Wartenberg (1974, 1976) beschrieben, durch Zellbrücken miteinander verbunden sind und so "synchronisierte" Zellgruppen bilden, die als "synchronized clusters" bezeichnet werden, schien der Weg, über die Clustergröße den "Stellenwert" der A-dark zu erfahren, nicht abwegig.

Dabei wurde von dem Gedanken ausgegangen, daß eine Spermatogonienart um so undifferenzierter sein muß, je kleiner,und um so differenzierter sein muß, je größer die Cluster sind, die von ihr gebildet werden.

Material und Methodik

Das von Herrn Prof. Dr. A.F. Holstein (Anatomisches Institut der Universität Hamburg) zur Verfügung gestellte Material stammte von einem 47 Jahre alten Mann, der wegen wiederholter Sittlichkeitsdelikte bestraft werden sollte und sich vor seinem Verfahren freiwillig einer Kastration unterzog.
Das Gewebe war lebensfrisch, unmittelbar nach der Entnahme, in kleinen Stückchen mit einer Kantenlänge von ca. 1 mm nach folgender Vorschrift (Holstein 1971) fixiert, entwässert und in den Kunststoff Epon 812 eingebettet worden:

I. Fixierung in:		Verweildauer:
6 % Glutaraldehyd (SCHUCHARDT) - München -		
in Phosphatpuffer	(eisgekühlt)	30'
Gemisch: Phosphatpuffer (0,2m)	1 Teil	
Glutaraldehyd (24 %)	1 Teil	
Aqua bidest.	2 Teile	
Anschließend:		
1 % OsO_4 in Phosphatpuffer (unter dem Abzug)	(eisgekühlt)	2 h
Gemisch: 2 % OsO_4	1 Teil	
0,2 m Puffer-Saccharose-Gemisch	1 Teil	
(100 ml Puffer + 6,846 g Saccharose)		

II. Entwässerung in:	Verweildauer:
35 % Alkohol bei 4° C	10-15'
50 % Alkohol bei 4° C	10-15'
70 % Alkohol bei 4° C	10-15'
96 % Alkohol bei 4° C	10-15'
100 % Alkohol bei Zimmertemperatur	10-15'
100 % Alkohol bei Zimmertemperatur	10-15'
Propylenoxid bei Zimmertemperatur	15'
Propylenoxid bei Zimmertemperatur	15'

III. Einbettung in:

a) fertige Eponmischung 1 Teil

Propylenoxid — mischen unter dem Abzug — 1 h

b) fertige Eponmischung 3 Teile

Propylenoxid 1 Teil — mischen unter dem Abzug! 12 h (z.B. über Nacht)

c) fertige Eponmischung in flachen Schälchen

polymerisieren bei 37°	5-10 h
polymerisieren bei 45°	12 h
polymerisieren bei 60°	12-16 h

Diese Vorschrift für die Einbettung in Epon gründet sich auf das von Luft (1961) angegebene Verfahren und wurde von Wartenberg (1966) und den Mitarbeitern des Anatomischen Instituts der Universität Hamburg modifiziert. Aus den auf diese Weise gewonnenen Kunststoffblöcken werden die eingebetteten Gewebsstückchen ausgesägt und mit Uhu-plus auf

einen Aluminiumzylinder geklebt.

Von diesen Präparaten wurden mit einem Ultramikrotom 1 u dicke Semidünnschnitte angefertigt. Die Schnitte wurden auf einer kleinen Wasserfläche aufgefangen, die bis an die Schneidekante des Glasmessers reichte. Von hier aus konnten sie mit einer Platinöse zusammen mit einem kleinen Wassertropfen in ein Blockschälchen, in dem sich die Färbeflüssigkeit befand, übertragen werden. Bei der Färbung schwammen die Schnitte auf folgender Lösung:

A = 1 % Toluidinblau in 1 %iger Boraxlösung

B = 1 % Pyroninlösung

Mischungsverhältnis: A : B = 4 : 1

Die Färbedauer betrug auf einer Heizplatte bei 80° C je nach Gewebe etwa 5 Minuten. Überschüssige Farbstoffmengen ließen sich durch Übertragen der Schnitte in 3 Schälchen mit Aqua bidest. entfernen. Die Schnitte wurden dann auf einen auf der Heizplatte liegenden Objektträger übertragen und nach Absaugen des Wassertropfens mittels eines Fließpapiers aufgetrocknet. Ein kleiner Tropfen zähflüssigen Caedax wurde auf ein Deckgläschen gebracht und dieses so auf den heißen Objektträger gelegt, daß das Caedax zwischen Objektträger und Deckglas floß.

Von einem der hergestellten Blöcke wurden 250 Serienschnitte angefertigt, die uns zur Auswertung übergeben wurden.

Die Identifizierung der A-dark-Spermatogonien erfolgte an 14 Kanälchenabschnitten, welche über sämtliche 250 Serienschnitte verfolgt werden konnten. Von jedem Serienschnitt lag eine Übersichtsaufnahme, die von Herrn Schare angefertigt worden war, vor, in denen die auszuwertenden Kanälchenabschnitte kenntlich gemacht waren. Von diesen Kanälchen wurden Einzelaufnahmen angefertigt, in denen die Geschlechtszellen deutlich zu erkennen waren.

Diese Aufnahmen lagen während der Identifizierung der A-dark-Spermatogonien unter dem Mikroskop vor. Da die Serie lückenlos war, gelang es, festzustellen, ob die unter dem Mikroskop identifizierten sowie in den Kanälchenaufnahmen kenntlich gemachten und numerierten A-dark-Spermatogonien einzeln oder in Form von Clustern vorlagen.

Resultate

1. Morphologische Befunde
2. Bestimmung der Clustergröße

In Ergänzung zu den in der Einleitung festgestellten Merkmalen der Spermatogonien vom Typ-A-dark ergaben sich folgende weiteren Befunde: In den Semidünnschnitten konnten 2 Arten von A-dark-Spermatogonien identifiziert werden, die als "dunkle" und "helle"-A-dark-Spermatogonien bezeichnet wurden.

Die dunklen A-dark-Spermatogonien entsprechen weitgehend den von Clermont (1963) beschriebenen Spermatogonien vom Typ-A-dark. Ihr Kern ist sphärisch oder ovoid, das Chromatin ist sehr fein granuliert und erscheint so fast homogen.

Im Kern lassen sich mindestens eine, meistens jedoch mehrere hell imponierende Vakuolen unterschiedlicher Größe erkennen, von denen mindestens eine einen noch randständigen Nukleolus enthält. Meist sind jedoch mehrere Nukleoli vorhanden.

Die "hellen"-A-dark-Spermatogonien sind den "dunklen"-A-dark-Spermatogonien sehr ähnlich, der Kern ist jedoch sehr viel heller, das Chromatin oft aufgelockerter. Vakuolen und Nukleoli sind aber in gleicher Art und Anzahl vorhanden. Auch zeigen die "hellen"-A-dark-Spermatogonien eine gleiche Lage zur Basalmembran und eine gleiche Größe der Gesamtzelle und ihres Kerns.

Streng abzugrenzen sind die "hellen"-A-dark-Spermatogonien von anderen, nicht klassifizierbaren, d.h. nicht zu einer der aufgeführten Typen gehörigen Spermatogonien, die ebenfalls einen dunklern Kern aufweisen und Kontakt zur Basalmembran besitzen. Das Chromatin der Kerne dieser Spermatogonien ist "wolkig", d.h. ungleichmäßig verteilt, so daß das Vorhandensein von Vakuolen vorgetäuscht werden kann. Ebenso sind die für die A-dark-Spermatogonien typischen Nukleoli nicht nachweisbar.

In Figur 1 und 2 sind die Häufigkeitsverteilungen der zu 5 Kollektiven zusammengefaßten Cluster von A-dark-Spermatogonien vom "dunklen" und vom "hellen" Typ graphisch dargestellt.

Kollektiv I setzt sich zusammen aus den einzeln auftretenden Spermatogonien, Kollektiv II aus den zu Zweierclustern formierten Spermatogonien und die Kollektive III, IV und V aus Clustern von 3 und 4, 5-8 und 9-16 Spermatogonien.

Aus den Tabellen 1a und 1b, sowie 2 und 3 und den Figuren 1 und 2 geht hervor, daß die Häufigkeitsverteilung der zu 5 Kollektiven zusammengefaßten Spermatogonien bei den A-dark-Spermatogonien vom "dunklen" und vom "hellen" Typ praktisch identisch ist.

So beträgt der prozentuale Anteil an der Gesamtzahl der erfaßten Cluster von A-dark-Spermatogonien vom "dunklen" und vom "hellen" Typ:

bei Kollektiv I	59,84 %	und 61,25 %
bei Kollektiv II	22,75 %	und 23,12 %
bei Kollektiv III	10,66 %	und 11,25 %
bei Kollektiv IV	4,92 %	und 2,50 %
bei Kollektiv V	1,84 %	und 1,88 %

Aus diesem Grunde wurden beide Spermatogonienarten als eine Spermatogonienart gewertet.

Der Anteil an der Gesamtzahl der erfaßten A-dark-Spermatogonien vom "dunklen" und vom "hellen" Typ beträgt:

	Zellen	%	Zellen	%
bei Kollektiv I	292	31,74	98	34,15
bei Kollektiv II	222	24,13	74	25,78
bei Kollektiv III	175	19,02	59	20,55
bei Kollektiv IV	142	15,43	21	7,32
bei Kollektiv V	89	9,67	35	12,19

Die Werte in Tabelle 2 und 3 lassen erkennen, daß die Anzahl der Cluster pro Kollektiv von Kollektiv zu Kollektiv jeweils annähernd um die Hälfte abnimmt. So enthalten bei den "dunklen" und den "hellen" A-dark-Spermatogonien:

Kollektiv I	292 Cluster	und	98 Cluster
Kollektiv II	111 Cluster	und	37 Cluster
Kollektiv III	52 Cluster	und	18 Cluster
Kollektiv IV	24 Cluster	und	4 Cluster
Kollektiv V	9 Cluster	und	3 Cluster

Diskussion

Die vorliegenden Daten ergeben, daß sich die A-dark-Spermatogonien vom "dunklen" und vom "hellen" Typ hinsichtlich der prozentualen Anteile der einzelnen Kollektive an der jeweiligen Gesamtpopulation weitgehend identisch verhalten. Daher können diese beiden Populationen, wie bereits aufgeführt, zu einer gemeinsamen Gesamtpopulation zusammengefaßt werden.

Der Prozentsatz der "Einercluster", die jeweils aus nur einer A-dark-Spermatogonie bestehen, an der Gesamtzahl aller Cluster beträgt etwa 60 % , das sind etwa 33 % aller A-dark-Spermatogonien.
Die "Einercluster" stellen nicht nur das größte Clusterkollektiv dar, sondern enthalten auch mehr A-dark-Spermatogonien als eines der anderen Kollektive. Als Ursache für das Auftreten einzelner A-dark-Spermatogonien kommt möglicherweise in Betracht, daß in diesen Fällen der Zusammenhang mit dem zugehörigen Cluster während der letzten Mitose durch Trennung der interzellulären Zellbrücken verlorenging oder daß ein oder mehrere "Clusterpartner" zugrundegegangen sind.
Umgekehrt stellen vor allem die großen, aus 9 - 16 A-dark-Spermatogonien bestehenden Cluster des Kollektivs V möglicherweise "zusammengesetzte" Cluster dar, d.h. Cluster, die sich von verschiedenen "Ausgangszellen" ableiten, anstatt von nur einer.

Geht man davon aus, daß die größten Cluster keine "zusammengesetzten" Cluster sind, sondern sich nur von einer "Ausgangszelle" ableiten, die als zur Generation 1 gehörig angesehen werden soll, so müßten 4 Zellteilungen zwischen dieser Ausgangszelle und den vorliegenden A-dark-Spermatogonien liegen, d.h. bei den A-dark-Spermatogonien würde es sich um die Generation 5 handeln.

Geht man dagegen von der Möglichkeit aus, daß es "zusammengesetzte" Cluster gibt, so ist die Frage, um welche Generation es sich bei den A-dark-Spermatogonien handeln dürfte, sehr schwer zu beantworten. Da die Kollektive I und II etwa 83 % aller Cluster enthalten, die Kollektive I - III etwa 94 % und die Kollektive I - IV etwa 98 % aller Cluster, so läge es im Bereich der Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei den A-dark-Spermatogonien um die Generation 3, möglicherweise um die Generation 4 handelt.

Unter der Voraussetzung, daß

1. im vorliegenden Auswertungsmaterial zusammengesetzte Cluster enthalten sind und
2. bei jeder Geschlechtszellteilung 10 % der Zellen zugrunde gehen,

würde die Zellzahl pro Teilung um den Faktor 1.8 zunehmen. In diesem Fall würden sich folgende "theoretischen" Kollektive ergeben: Kollektiv I würde die einzelnen A-dark-Spermatogonien umfassen, Kollektiv II 1 - 1.8 A-dark-Spermatogonien, Kollektiv III 1.8 - 3.2, Kollektiv IV 3.2 - 5.8, Kollektiv V 5.8 - 10.5 und Kollektiv VI 10.5 - 18.9 A-dark-Spermatogonien.

Unter dieser Prämisse würden die Kollektive I - III etwa 91 % aller Cluster enthalten, Kollektiv I - IV etwa 96 % und Kollektiv I - V ungefähr 99,5 %. Auch hierbei liegt es im Bereich der Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei beiden A-dark-Spermatogonien um die Generation 3, möglicherweise um die Generation 4 handelt.

Nach den Befunden von Schare (1978), der an demselben Material nach dem gleichen Auswertungsmodus die Clustergröße der späten präleptotänen I-Spermatocyten bestimmte, ist zu vermuten, daß die A-dark-Spermatogonien in der Sequenz der hintereinandergeschalteten Geschlechtszellgenerationen 2 Generationen vor den präleptotänen I-Spermatocyten liegen. Das würde bedeuten, daß die A-dark-Spermatogonien die Mutterzellen der B-Spermatogonien sind.

In diesem Zusammenhang soll auf die interessanten Ergebnisse von Schulze (1978) eingegangen werden, der beschreibt, daß die A-dark-Spermatogonien gegen Antiandrogene besonders sensibel sind. Schulze hebt in diesem Zusammenhang hervor, daß die A-dark-Spermatogonien als Stammzellen (renewing stem cells) aller Wahrscheinlichkeit nach ausscheiden. Diese Ansicht steht in Einklang mit den Befunden von in vitro Untersuchungen, die Chowdhury und Steinberger (1977) durchgeführt haben. Schulze wirft dann die Frage auf, welche Bedeutung den A-dark-Spermatogonien im Ablauf der Spermatogenese zukommt.

Er gelangt zu dem interessanten Schluß, daß die A-dark-Spermatogonien nicht erforderlich seien, um normale Spermatozoen hervorzubringen, daß sie aber vorhanden sein müssen, um eine normale Spermatogenese zu gewährleisten. Das würde bedeuten,

1. daß die Bildung der Spermatozoen sowohl über die A-pale als auch über die A-dark-Spermatogonien erfolgen kann,
2. daß die Produktion der Spermatozoen über die A-pale-Spermatogonien weniger anfällig ist als über die A-dark-Spermatogonien,
3. daß aber letztere für den Zustand einer Normozoospermie unbedingt erforderlich sind.

Die Relevanz dieser Frage für die vorliegenden Befunde dürfte dann gegeben sein, wenn sich bestätigen sollte, daß die A-pale-Spermatogonien in der Relation ihrer Clustergrößen mit den A-dark-Spermatogonien übereinstimmen, wofür die bisherigen Untersuchungen von Neubacher (1978) sprechen.

Zusammenfassung

Anhand einer Serie von 250 Semidünnschnitten von Hodengewebe, das von einem 47-jährigen Mann stammte und von Prof. Holstein, Hamburg, zur Verfügung gestellt wurde, sollte geklärt werden, an welcher Stelle der Spermatogenese die A-dark-Spermatogonien einzugliedern sind.

Da die Geschlechtszellen "synchronisierte" Zellgruppen bilden, die als "synchronized clusters" (Dym und Fawcett (1971), Wartenberg (1974, 1976)) bezeichnet werden, wurde dies über die Clustergröße versucht.

Es stellte sich heraus, daß zwei Arten von A-dark-Spermatogonien zu unterscheiden sind, die als "dunkle" und "helle" A-dark-Spermatogonien bezeichnet wurden.

Die "dunklen" A-dark-Spermatogonien entsprechen weitgehend den von Clermont (1963) beschriebenen Spermatogonien vom Typ A dark. Die "hellen" A-dark-Spermatogonien sind dem dunklen Typ sehr ähnlich, weisen jedoch einen helleren Kern und ein manchmal etwas aufgelockerteres Chromatin auf.

Bei der Bestimmung der Clustergröße zeigte sich, daß die maximale Anzahl von Spermatogonien pro Cluster 16 Spermatogonien betrug. Die Cluster ließen sich zu je fünf Kollektiven von A-dark-Spermatogonien vom "dunklen" und vom "hellen" Typ zusammenfassen, wobei sich Kollektiv I

aus den einzeln auftretenden Spermatogonien, Kollektiv II aus den zu Zweierclustern formierten Spermatogonien und die Kollektive III, IV und V aus Clustern von 3 und 4, 5 - 8 und 8 - 16 Spermatogonien zusammensetzten. Aus den Häufigkeitsverteilungen dieser zu fünf Kollektiven zusammengefaßten "dunklen" und "hellen" Spermatogonien ging hervor, daß die A-dark-Spermatogonien vom "dunklen" und vom "hellen" Typ praktisch identisch sind. Sie wurden deshalb als eine Spermatogonienart gewertet.
Ferner ließ sich erkennen, daß die Anzahl der Cluster pro Kollektiv von Kollektiv zu Kollektiv jeweils annähernd um die Hälfte abnahm.

Der hohe Prozentsatz der "Einercluster" von etwa 60 % an der Gesamtzahl aller Cluster läßt sich möglicherweise dadurch erklären, daß der Zusammenhang mit dem zugehörigen "Clusterpartner" während der letzten Mitose verlorenging, oder ein oder mehrere "Clusterpartner" zugrundegegangen sind.
Umgekehrt handelt es sich möglicherweise bei den großen Clustern des Kollektivs V nicht um aus einer Ausgangszelle hervorgegangene Cluster, sondern um "zusammengesetzte", d.h. eventuell aus zwei oder mehreren "Ausgangszellen" hervorgegangene Cluster.

Geht man jedoch nicht davon aus, daß die großen Cluster "zusammengesetzte" Cluster sind, sondern sich von einer

"Ausgangszelle" ableiten, die als zur Generation 1 gehörig angesehen werden soll, so müßte es sich bei den Clustern des Kollektivs V augrund von vier auf die Generation 1 folgenden Zellteilungen um die Generation 5 handeln.

Geht man dagegen von der Möglichkeit der "zusammengesetzten" Cluster aus, so ist es wahrscheinlich möglich, daß es sich um die Generation 3, eventuell um die Generation 4 handeln könnte, da die Kollektive I - III etwa 94 % und die Kollektive I - IV etwa 98 % aller Cluster enthalten.

Ähnliche Ergebnisse ergeben sich ebenso unter der Prämisse, daß bei jeder Geschlechtszellteilung 10 % der Zellen zugrunde gehen, die Zellzahl pro Teilung also um den Faktor 1,8 zunimmt.

Nach den Befunden von Schare (1978) bezüglich der Clustergröße der späten präleptotänen I-Spermatocyten liegen die A-dark-Spermatogonien vermutlich in der Sequenz der hintereinandergeschalteten Geschlechtszellgenerationen 2 Generationen vor den präleptotänen I-Spermatocyten. Demnach wären die A-dark-Spermatogonien die Mutterzellen der B-Spermatogonien.

Abbildung 1 Modifiziertes Schema der Spermatogenese nach PEREY, CLERMONT und LEBLOND.

Unterste, erste Reihe: undifferenzierte Spermatogonien und A_1 -Spermatogonien bis Stadium IX. A_2 -Spermatogonien bis Stadium XII, A_3 -Spermatogonien bis Stadium XIV.

Zweite Reihe: A_4 -Spermatogonien im Stadium I, Im -Spermatogonien bis Stadium IV, B-Spermatogonien bis Stadium VI.

Präleptotäne I -Spermatocyten bis Stadium VIII, leptotäne I -Spermatocyten bis Stadium XI, zygotäne I -Spermatocyten bis Stadium XIV.

Dritte Reihe: Pachytäne I -Spermatocyten bis Stadium XII, diplotäne I -Spermatocyten in Stadium XIII, II -Spermatocyten in Stadium XIV.

Vierte und fünfte Reihe: Spermatiden bis Stadium VIII.

Die Punkte rechts über den Spermatogonien geben an, daß in diesen Stadien (IX, XII, XIV, I, IV, VI) die Mitosen der Spermatogonien (A_1 - B) stattfinden. Die Reifeteilungen, die im Stadium XIV a und c stattfinden, sind nicht berücksichtigt.

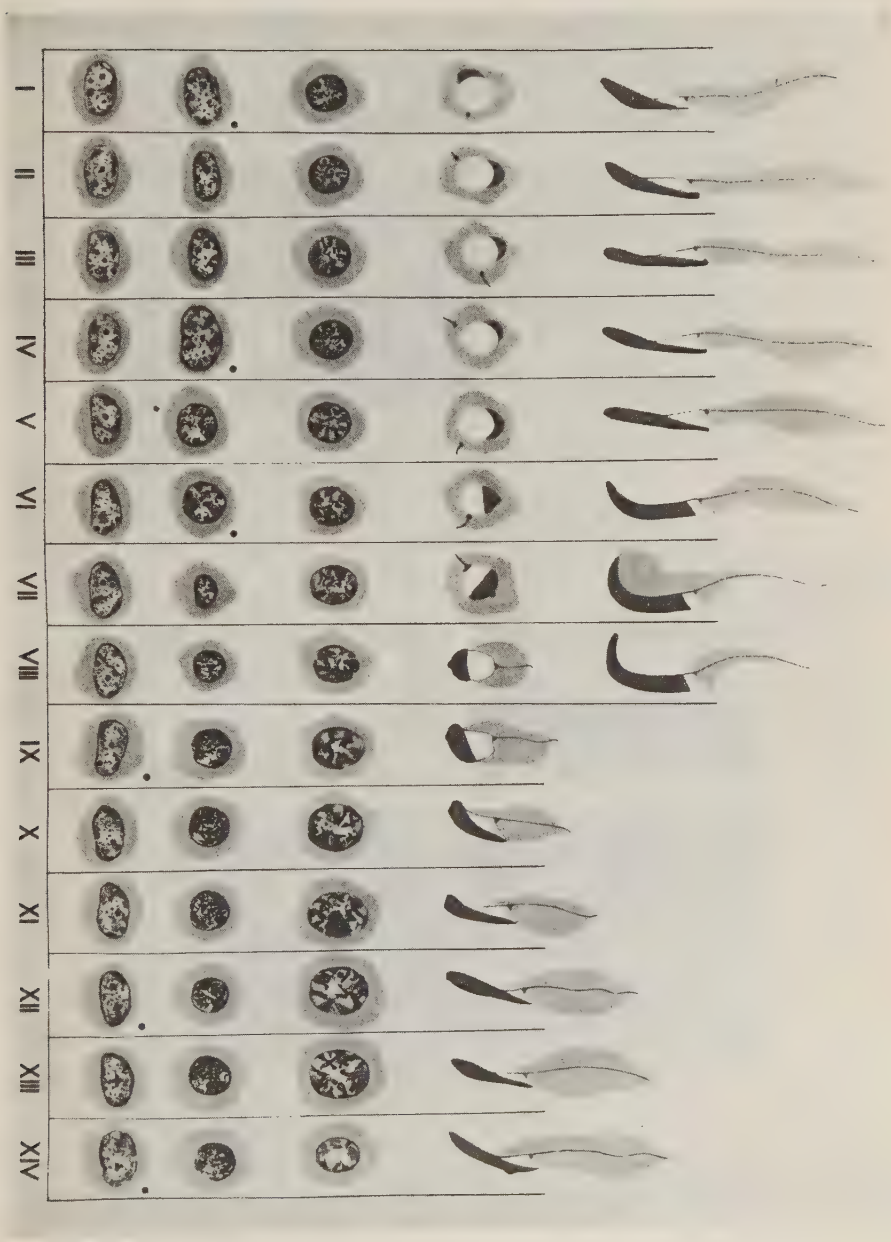


Abbildung 1

Abbildung 2

Oben: Abschnitt eines Samenkanälchens des Rindes mit den Stadien 4, 5, 6 und 7.
Unten: Könnte man das Samenkanälchen an der Seite aufschneiden und aufrollen, so erhielte man aneinandergereihte Streifen, die den einzelnen Stadien entsprechen (Schema von Prof. Dr. W. Leidl, München).

Abbildung 2a

Oben: Abschnitt eines Samenkanälchens des Menschen.
Unten: Könnte man das Samenkanälchen an der Seite aufschneiden und aufrollen, so erhielte man Streifen, die aus verschiedenen Flecken - ohne jede ersichtliche Ordnung - zusammengesetzt sind (Schema von Prof. Dr. W. Leidl, München).

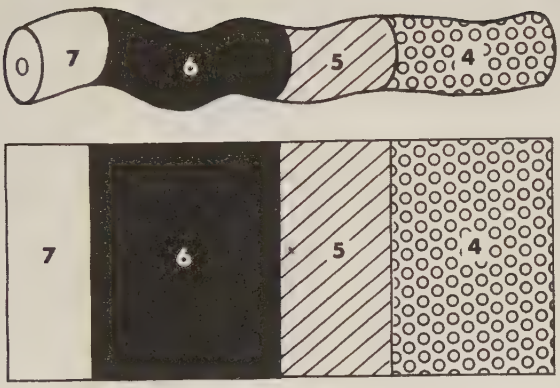


Abbildung 2

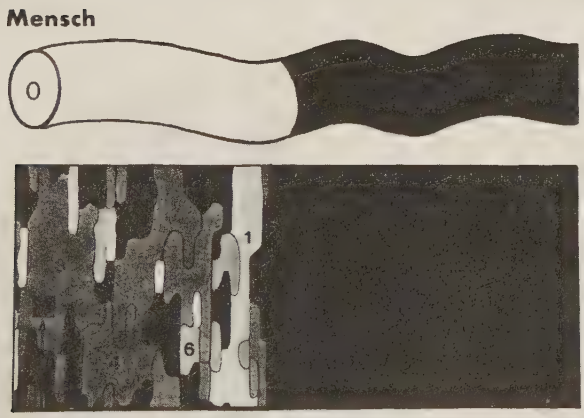


Abbildung 2a

Tabelle 1a: Anzahl der Cluster der "dunklen" A-dark-Spermatogonie pro Kanal. Clustergröße: 1 Spermatogonie bis zu 16 Spermatogonien pro Cluster. Auszählung erfolgte in 14 Kanälchen.

Tabelle 1b: Anzahl der Cluster der "hellen" A-dark-Spermatogonie pro Kanal. Clustergröße: 1 Spermatogonie bis zu 16 Spermatogonien pro Cluster. Auszählung erfolgte in 14 Kanälchen.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	Kanal
1	17	10	16	9	20	19	9	23	33	21	24	23	18	50	
2	4	6	9	2	14	9	4	5	12	4	8	6	13	15	
3	1	-	2	1	2	1	1	2	11	1	3	3	4	1	
4	1	-	-	-	2	-	-	4	5	3	2	1	1	-	
5	-	-	1	-	2	1	-	1	-	-	2	-	3	-	
6	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-	1	2	1	-	
7	1	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	2	
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
9	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	1	1	
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
11															
12	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	
13															
14															
15															
16															

"dunkle" A dark Spermatogonien/Cluster

Tabelle 1a

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	Kanal
1	26	13	7	3	4	2	4	7	-	2	10	8	9	3	
2	2	5	4	-	4	2	2	1	-	1	7	6	3	-	
3	1	1	-	-	3	-	-	2	-	1	1	-	4	-	
4	2	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	
5	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
6	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7															
8															
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	
11															
12															
13															
14															
15															
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	

"helle" A dark Spermatogonien/Cluster

Tabelle 1b

Kollektiv	Absolut	Summe	Relativ	Summe	Anzahl der Cluster
I	292	292	59,84 %	59,84 %	
II	111	403	22,75 %	82,59 %	
III	52	455	10,66 %	93,25 %	
IV	24	479	4,92 %	98,17 %	
V	9	488	1,84 %	100,00 %	

Tabelle 2: Häufigkeitsverteilung der Kollektive der "dunklen" A dark Spermatogonien

Kollektiv	Absolut	Summe	Relativ	Summe	Anzahl der Cluster
I	98	98	61,25 %	61,25 %	
II	37	135	23,12 %	84,37 %	
III	18	153	11,25 %	95,62 %	
IV	4	157	2,50 %	98,12 %	
V	3	160	1,88 %	100,00 %	

Tabelle 3: Häufigkeitsverteilung der Kollektive der "hellen" A dark Spermatogonien

Figuren 1 und 2 Graphische Darstellung der Häufigkeitsverteilung der zu 5 Kollektiven zusammengefaßten Cluster von A dark Spermatogonien vom "dunklen" und vom "hellen"Typ.
Kollektiv I umfaßt die einzeln auftretenden A dark Spermatogonien, Kollektiv II die aus 2, Kollektiv III die aus 3 und 4, Kollektiv IV die aus 5 - 8 und Kollektiv V die aus 8 - 16 Spermatogonien bestehenden Cluster.

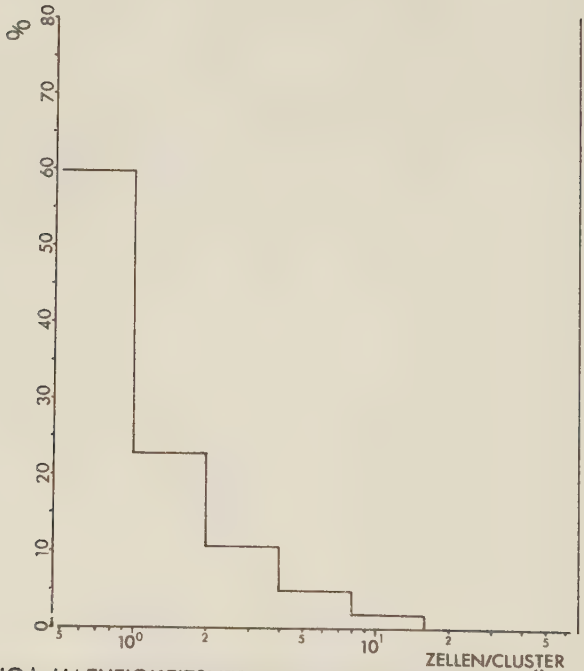


FIG.1 HAEUFIGKEITSVERTEILUNG DER „DUNKLEN"
A DARK SPERMATOGONIEN

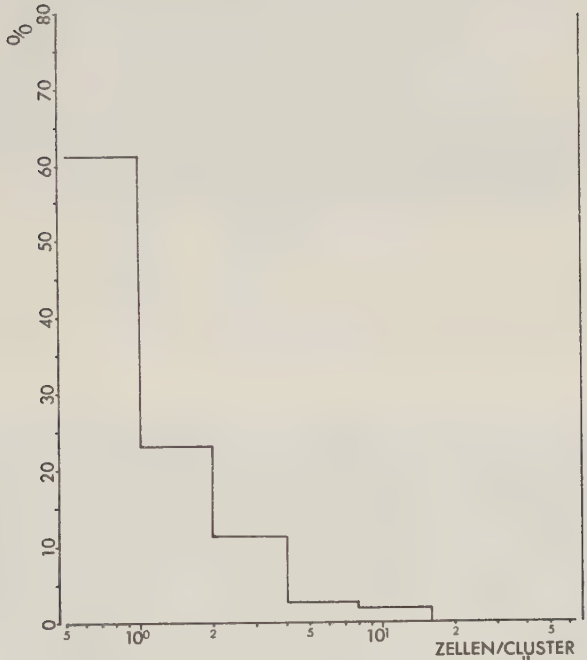


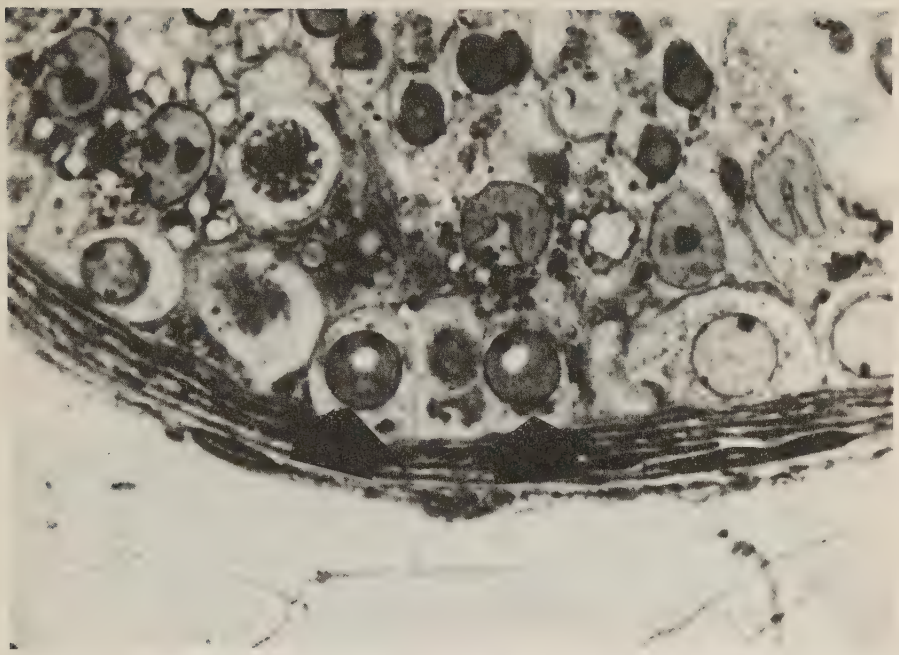
FIG. 2 HAEUFIGKEITSVERTEILUNG DER „HELLEN" A DARK SPERMATOGONIEN

Figur 3: Zwei "dunkle" A dark Spermatogonien aus einem "Dreiercluster". Dazwischen die degenerierte dritte A dark Spermatogonie.
Vergrößerung:

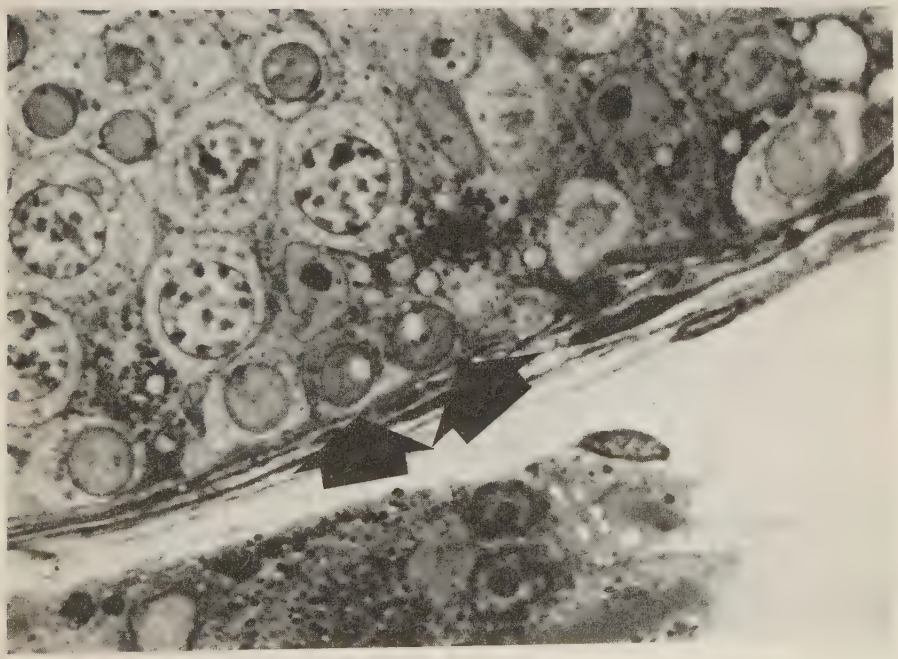
Figur 4: Zu einem "Zweiercluster" formierte "dunkle" A dark Spermatogonien.
Vergrößerung:

Figur 5: Zu einem "Zweiercluster" formierte "helle" A dark Spermatogonien.
Vergrößerung:

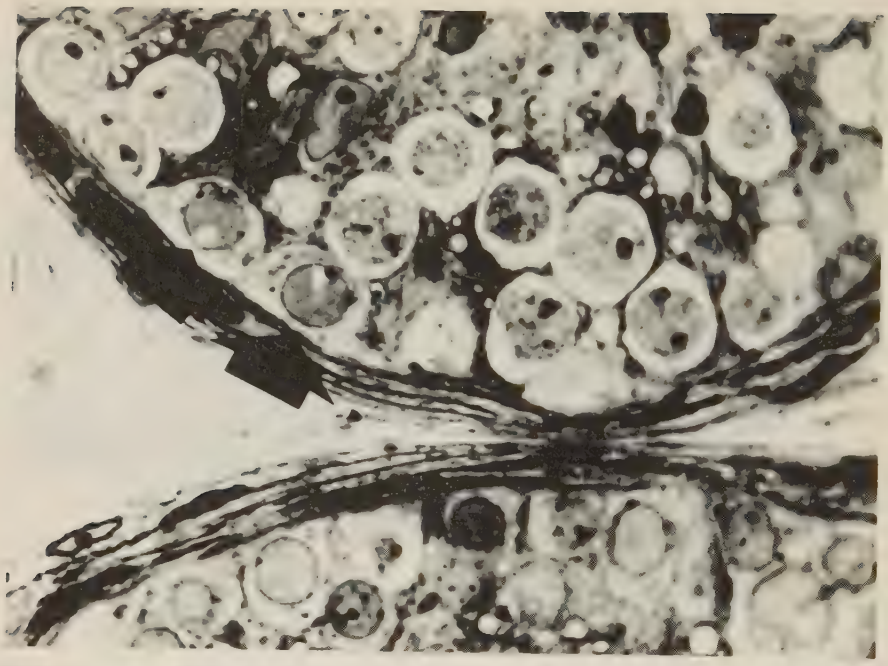
Figur 6: Drei "helle" A dark Spermatogonien aus einem Cluster, der insgesamt sechs "helle" A dark Spermatogonien umfaßt.
Vergrößerung:



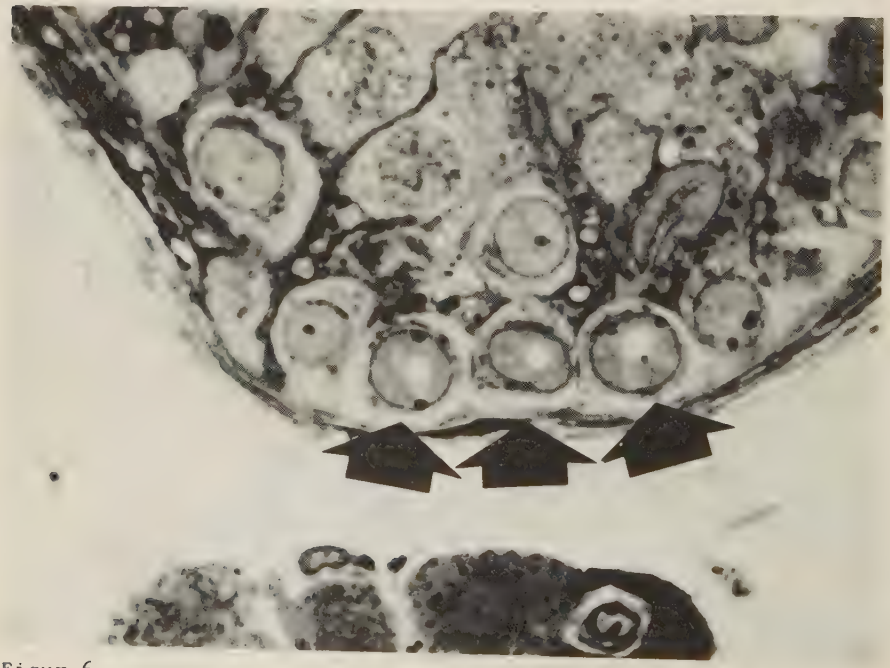
Figur 3



Figur 4



Figur 5



Figur 6

Literaturverzeichnis

Amann, R.P., H.H. Koefoed-Johnson and H. Levi: Excretion pattern of labeled spermatozoa and timing of spermatozoa formation and epididymal transit in rabbits injected with thymidine-^{3}H. J. Reprod. Fertility 10, 169 - 183 (1965).

Chowdhury, A.K. und E.A. Steinberger: In vitro ^{3}H-thymidine labeling pattern and topographic distribution of spermatogonia in human seminiferous tubules. In: The testis in normal and infertill men, herausgegeben von Philip troen und Howard R. Nankin. Raven Press, New York 1977

Clermont, Y.: The cycle of the seminiferous epithelium in man. Am. J. Anat. 112, 35 - 51 (1963)

Clermont, Y.: Renewal of spermatogonia in man. Am. J. Anat. 118, 509 - 524 (1966).

Clermont, Y.: Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. Physiological Reviews 52, 198 - 236 (1972).

Clermont, Y. and S.C. Harvey: Duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal, hypophysectomized and hypophysectomized-hormone treated albino rats. Endocrinology 76, 80 - 89 (1965).

Dym, M. and D.W. Fawcett: Further observations on the mumbers of Spermatogonia, spermatocytes, and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis. Biology of Reproduction 4, 195 - 215 (1971).

Heller, C.G. and Y. Clermont: Spermatogenesis in man: an estimate of its duration. Science 140, 184 - 186 (1963).

Hilscher, W.: Beiträge zur Orthologie und Pathologie der "Spermatogoniogenese" der Ratte. Beitr. Pathol. Anat. 130, 69 - 132 (1964).

Hilscher, W. und B. Hilscher: Autoradiographische Untersuchungen über die Kinetik der Spermatogenese der Wistarratte unter besonderer Berücksichtigung der Spermatocytogenese. Zschr. Zellforsch. 96, 625 - 640 (1969).

Holstein, A.F. und U. Wulfhekel: Die Semidünnschnitt-Technik als Grundlage für eine cytologische Beurteilung der Spermatogenese des Menschen. andrologie 3 (2), 65 - 69 (1971).

Hochereau, M.T., M. Courot et R. Ortavant: Durée de la spermatogénese chez le taureau; étude par autoradiographie testiculaire. Proc. 5th Intern. Congr. Animal Reprod., Trento, 1964, 3, 541 - 546 (1964).

Huckins, C.: Duration of spermatogenesis in pre- and postpuberal Wistar rats (Abstr.). Anat. Record 151, 364 (1965).

Leblond, C.P.,and Y. Clermont: Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. Ann. N. Y. Acad. Sci. 55, 548 - 573 (1952).

Leidl, W., and B. Waschke: Comparative aspects of the kinetics of the spermatogenesis. In: Fortschritte der Andrologie, Vol. 1: Morphological aspects of andrology 1, 21 - 24 (1970).

Neubacher, Ulrich: Untersuchungen zur Clustergröße der A pale Spermatogonien des Menschen. Inaug.-Diss., Düsseldorf (1978)

Oakberg, E. F.: Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium. Am. J. Anat. 99, 507 - 516 (1956).

Orgebin-Crist, M. C.: Passage of spermatozoa labeled with thymidine-^{3}H through the ductus epididymidis of the rabbit. J. Reprod. Fertility 10, 241 - 251 (1965).

Perey, B., Y. Clermont and C. P. Leblond: The way of the seminiferous epithelium in the rat. Am. J. Anat. 108, 44 - 47 (1961)

Rowley, M.J., J.D. Berlin and C.G. Heller: The ultrastructure of four types of human spermatogonia. Z. Zellforschung. 112, 139 - 157 (1971).

Schulze, Wolfgang: Licht und elektronenmikroskopische Studien an den A-Spermatogonien fertiler Männer und bei Portreiden nach Behandlung mit antiandogenen. andrologia (in Druck).

Swierstra, E.E.: Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar. Duration of spermatozoon transit through the epididymis. Anat. Record 161, 171 - 186 (1968).

Wartenberg, H.: Spermatogenese-Oogenese: ein cyto-morphologischer Vergleich. Verh. Anat. Ges. 68, 63 - 92 (1974).

Wartenberg, H.: Comparative cytomorphologic aspects of the male germ cells especially of the "Tonia". Andrologia 8, 117 - 130 (1976)

Herrn Professor Dr. H.-W. Schlipköter gilt mein Dank für die Überlassung eines Arbeitsplatzes.

Herrn Professor Dr. W. Hilscher danke ich für die Überlassung des Themas, die tatkräftige Unterstützung und seine wertvollen Anregungen und Ratschläge.

Herrn Professor Dr. Holstein danke ich für die Überlassung der Semidünnschnitte.

Ebenfalls möchte ich Frau B. Hilscher für ihre Unterstützung und Frau Krämer für die freundliche Beratung in statistischen Angelegenheiten danken.

L e b e n s l a u f

8.7.1953	als Sohn des Realschullehrers Franz Kammann und seiner Ehefrau Maria geb. Ackermann in Essen geboren.
1.4.1960	Einschulung in die Volksschule "Am Krausen Bäumchen" in Essen.
9.4.1964	Eintritt in das neusprachliche Gymnasium Essen - Werden.
16.5.1972	Ablegung des Abiturs.
WS 1972/73	Aufnahme des Medizinstudiums in Düsseldorf.
21.3.1975	Ärztliche Vorprüfung in Düsseldorf.
30.3.1976	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Düsseldorf.

Altfried Kammann